

Virtsan polyamiinit urologisten syöpien diagnostiikassa

Sami Koskela & Mikko Moisander
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Kir. ap. prof. Oksalan tutkimusryhmä
Joulukuu 2014

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Kirurgian apulaisprofessori Oksalan tutkimusryhmä

Koskela Sami & Moisander Mikko: Virtsan polyamiinit urologisten syöpien diagnostiikassa

Kirjallinen työ, 30 sivua
Ohjaajat: Kir. ap. prof. Niku Oksala ja LT Antti Roine

Joulukuu 2014

Avainsanat: spermiini, spermidiini, eturauhassyöpä, virtsarakon syöpä, munuaissyöpä, nestekromatografia-tandemmassaspektrometria

Johdanto: Urologiset syövät ovat hyvin yleisiä, erityisesti eturauhassyöpä. Poislukien eturauhassyöpä, niihin ei ole kliinisessä käytössä riittävän hyviä diagnostisia markkereita. Tämän tutkimuksen tarkoituksena on selvittää polyamiinien diagnostista arvoa urologisissa syövässä.

Materiaalit & menetelmät: Urologista syöpää sairastavilta ja verrokkiryhmältä määritettiin virtsasta polyamiinipitoisuudet. Pääkomponenttianalyysillä ja leave-one-out ristiinvalidoinnilla laskettiin menetelmän sensitiivisyys ja spesifisyys urologisten syöpien diagnostiikassa.

Tulokset: Polyamiinipitoisuuksissa ei ollut merkitseviä eroja verrokkien ja syöpäpotilaiden välillä, joskin verrokkiryhmässä polyamiinipitoisuudet olivat johdonmukaisesti hieman alempia. Eturauhassyövässä saavutettiin 80 % sensitiivisyys ja 33 % spesifisyys. Vastaavasti virtsarakkosyövässä 30 % sensitiivisyys ja 62 % spesifisyys. Munuaissyövässä 50 % sensitiivisyys ja 48 % spesifisyys.

Pohdinta: Tämän tutkimuksen perusteella virtsan polyamiinit eivät sovellu urologisten maligniteettien diagnostiikkaan. On kuitenkin huomattava, että otoskoot olivat varsin pieniä rakko- ja munuaissyövän osalta. Muissa tutkimuksissa polyamiinien käytöstä diagnostiikassa on kuitenkin saatu lupaavia tuloksia.

Sisällysluettelo

1. JOHDANTO	1
2. KIRJALLISUUSKATSAUS	2
2.1 Urologiset syövät	2
2.1.1 Eturauhassyöpä	3
2.1.2 Virtsarakon syöpä	7
2.1.3 Munuaissyöpä	9
2.2 Polyamiinit	11
2.2.1 Polyamiinien metabolia	12
2.2.2 Polyamiinit ja syöpä	14
2.2.3 Polyamiinit urologisissa syövässä	15
3. MATERIAALIT JA METODIT	16
3.1 Potilasmateriaali	16
3.2 Nestekromatografia-tandemmassaspektrometria	17
3.3 Tilastolliset menetelmät	17
4. TULOKSET	18
4.1 Polyamiini pitoisuudet	18
4.2 Luokittelu	20
5. POHDINTA	21
VIITTEET	25

1 Johdanto

Urologiset syövät ovat erittäin yleisiä. Vuonna 2012 Suomessa oli miehillä 15 419 diagnosoitua syöpätapausta, joista eturauhas-, munuais-, rakko- ja virtsanjohdinsyövät käsittivät 6017 tapausta eli noin 40 %. Varsinkin eturauhassyövän osuus on suuri ollen 4604 tapausta vuonna 2012. Samana vuonna naisilla oli 14 895 syöpätapausta, joista munuaissyöpä ja virtsarakon syöpä käsittivät 672. (Suomen syöpärekisteri.)

Tällä hetkellä ei ole olemassa yksinkertaista tapaa diagnosoida urologisia syöpiä. Toisaalta kyseiset syövät voivat edetä hyvinkin pitkälle ennen kuin ne aiheuttavat oireita. Varhainen diagnostiikka parantaisi syövän ennustetta merkittävästi. Tämä on nähty esimerkiksi kohdunkaulan syövässä, jonka aiheuttama kuolleisuus on Suomessa laskenut merkittävästi PAPA-seulontojen käyttöönoton jälkeen (Hakama & Hristova 1997).

Tällä hetkellä ainoa laajassa kliinisessä käytössä oleva merkkiaine urologisten syöpien diagnostiikkaan on prostataspesifinen antigeeni (PSA), joka soveltuu vain eturauhassyövän diagnostiikkaan. Sen käyttöön liittyy kuitenkin monia ongelmia. Toisaalta PSA-pitoisuuteen vaikuttaa monet muutkin tilat kuin eturauhassyöpä. Sen pitoisuus nousee esimerkiksi eturauhastulehduksen ja hyvänlaatuisen eturauhasen liikakasvun yhteydessä. Lisäksi eturauhassyöpä ei välttämättä aina nosta PSA-arvoa tai nousu voi olla hyvin minimaalista. Virtsarakon syövän diagnostiikassa käytössä oleva virtsan sytologian tutkiminen ja erilaiset uudet merkkiaineet sisältävät myös omat puutteensa. Munuaissyövän diagnostiikkaan ja seurantaan ei ole tällä hetkellä käytössä mitään markkereita.

Virtsaan erittyy erilaisia elimistön metabolisia tuotteita. Koulutettujen koirien on osoitettu pystyvän erottamaan hyvin tarkasti eturauhassyöpäpotilaan virtsa ja terveen henkilön virtsa toisistaan (Cornu ym. 2010). Lauma koiria ei kuitenkaan sovellu sairaalaympäristössä tapahtuvaan diagnostiikkaan. Tiedetään, että polyamiinien pitoisuudet nousevat erilaisissa syöpätaudeissa ja niiden tiedetään myös erittyvän virtsaan (Gerner & Meyskens 2004). Niiden pitoisuuksia liuoksessa voidaan mitata nestekromatografia-tandemmassaspektrometrialla (Häkkinen ym. 2013). Mikäli tällä menetelmällä

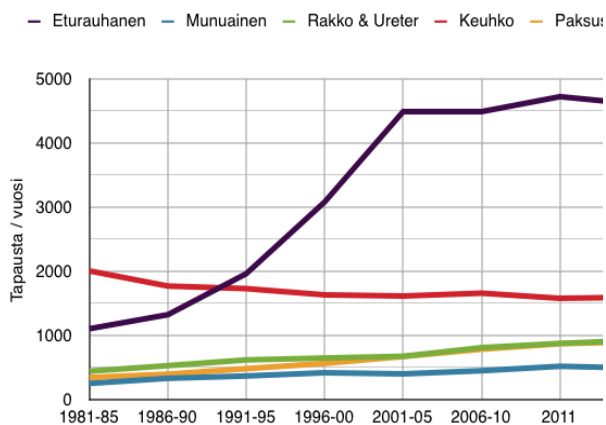
pystyttäisiin erottamaan terveet ja syöpäpotilaat toisistaan, tarjoaisi tämä tehokkaan ja non-invasiivisen keinon syövän diagnostiikkaan.

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on mitata polyamiinipitoisuuksia nestekromatografia-tandemmassaspektrometrialla urologisten potilaiden virtsanäytteistä ja määrittää pystytäänkö menetelmällä erottamaan benigni näyte ja syöpänäyte toisistaan. Tarkoitus on myös selvittää millainen spesifisyys ja sensitiivisyys tällä menetelmällä saavutetaan. Tutkimus keskittyy eturauhas-, virtsarakko- ja munuaissyövän diagnostiikkaan.

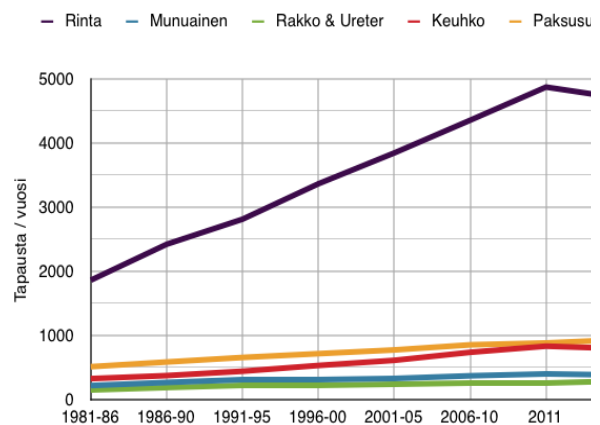
2 Kirjallisuuskatsaus

2.1 Urologiset syövät

Tässä työssä käsitellään eturauhas-, virtsarakko- ja munuaissyöpiä. Lisäksi urologisiin syöpiin voidaan lukea ureter-, urethra-, penis- ja kivessyövät. Alla olevista taulukoista nähdään näiden syöpien ilmaantuvuuden kehitys suomalaisessa väestössä 1980 - 2012. Viisivuotiskauskoilla arvo on ilmaantuvuuden keskiarvo vuotta kohden. Vertailuna taulukoissa on myös keuhko- ja paksusuolensyöpien ilmaantuvuudet sekä naisten osalta lisäksi rintasyövän ilmaantuvuus. Taulukoiden tiedot perustuvat Suomen Syöpärekisterin tilastoihin.



Taulukko 1. Syöpien ilmaantuvuus miehillä.



Taulukko 2. Syöpien ilmaantuvuus naisilla.

2.1.1 Eturauhassyöpä

Eturauhassyöpä on miesten yleisin syöpä Suomessa. Uusien tapausten määrät ovat olleet jatkuvassa kasvussa 1960-luvulta asti, jolloin Suomessa alettiin rekisteröidä syöpiä. Tuolloin vuosittain todettiin keskimäärin 483 uutta tapausta. Ensimmäistä kertaa uusien tapausten insidenssin kasvu taittui vuonna 2012, jolloin uusia tapauksia diagnosoitiin 4 604 kappaletta kun niitä vuotta aiemmin oli 4 722 kappaletta. Vuonna 2012 eturauhassyövän osuus kaikista miesten syöivistä oli 29,9 % ja ikävakioitu insidenssi 81,2/100 000. Suuresta insidenssistä huolimatta eturauhassyöpään kuolleisuus vastaa vain 13,7 % kaikista miesten syöpäkuolemista ollen toiseksi yleisin miesten syöpäkuolleisuuden syy 855 tapauksella (ikävakioitu 12,6/100 000) vuonna 2012. Edellä mainituista johtuen eturauhassyövän prevalenssi on jatkuvasti kohonnut ollen 43 267 potilasta vuonna 2013. (Suomen syöpärekisteri)

Maailmalla eturauhassyöpä on etenkin kehittyneiden maiden ongelma vastaten n. 15 %:sta miesten syöpiä kun kehittymättömissä maissa vastaava luku on n. 4 %. Esimerkiksi Euroopassa eturauhassyöpä onkin miesten yleisin syöpä. Ilmaantuvuusosuudet vaihtelevat kuitenkin suuresti alueellisesti ollen esimerkiksi Maltalla 68,8 ja Belgiassa 182. (Jemal ym. 2008, Ferlay ym. 2008)

Eturauhassyövän tärkein riskitekijä on ikä. Alle 50-vuotiailla eturauhassyöpä on varsin harvinainen sairaus, mutta sen insidenssi alkaa nousta 55 vuoden iässä huomattavasti saavuttaen huippunsa reilun 70 vuoden ikäisillä. Eturauhassyövässä periytyvä syöpäalttius selittää 2–5 % tapauksista ja perheittäin kulkevia tauteja on noin 15–20 %. Yhdysvalloissa eturauhassyöpä on yleisempää mustilla kuin valkoisilla miehillä. (Suomen syöpärekisteri, Pakkanen ym. 2007, Bratt 2002, Merrill & Brawley 1997.)

Ympäristötekijöiden vaikutusta eturauhassyöpäriskiin on tutkittu runsaasti. Ympäristötekijöiden vaikutuksen puolesta puhuvat tutkimukset, joissa erilaisen esiintyvyyden alueelta muutetaan toiselle alueelle ja samalla riski eturauhassyöpään muuttuu selkeästi. Suojaavia vaikutuksia voi olla liikunnalla, vihreällä teellä, isoflavonoideilla, monitydyttyneillä rasvahapoilla ja omega-3 rasvoilla. Puutteellinen D-vitamiinin saanti, runsas rasvan ja lihan syönti, tupakointi, eturauhastulehdus ja muut eturauhaseen vaikuttavat tulehdukselliset tilat voivat puolestaan olla yhteydessä kohonneeseen eturauhassyövän riskiin. (Zaridze ym. 1984, Hori ym. 2011, van Patten ym. 2008, Shui ym. 2012, Liu ym. 2011, Dennis ym. 2002, Zu & Giovannucci 2009.)

Eturauhassyövässä ei ole helposti havaittavia tyypioireita vaan oireet ovat monimuotoisia ja menevät suurelta osin päällekkäin etenkin eturauhasen hyvänlaatuisen liikakasvun kanssa. Oireita voivat olla virtsaamisen ongelmat, kuten tarve herätä virtsaamaan yöllä, pakkoinkontinenssi, tiheä virtsaamistarve, heikentynyt virtsasuihku ja rakon vajaa tyhjeneminen. Toisaalta joskus ensimmäisenä oireena ilmenevät luustokivut, jotka johtuvat pitkälle edenneestä taudista ja sen lähettämistä luustometastaaseista. (Eturauhassyöpä: Käypä hoito –suositus 2014.)

Diagnostiikka perustuu anamneesiin ja statukseen, erityisesti tuseeraukseen. Kyhmyt ovat varsin yleisiä löydöksiä ja niistä suuri osa on hyvänlaatuisia. Potilas kuuluu kuitenkin erikoissairaanhoidon jatkoselvittelyihin syövän poissulkemiseksi. Eturauhasen suuri koko on yleensä merkki hyvänlaatuisesta liikakasvusta ja aristus tyypioire eturauhastulehduksessa. (Eturauhassyöpä: Käypä hoito –suositus 2014.)

PSA on tärkein diagnostinen markkeri. Se on eturauhaselle spesifinen merkkiaine, mutta nousee muissakin tiloissa kuin syövässä. Tuoreen laajan monikeskustutkimuksen mukaan PSA-seulontojen avulla pystyttäisiin vähentämään 20 % eturauhassyöpäkuolleisuudesta. Seulonnalla ei pystytä tekemään eroa aggressiivisen ja hitaasti etenevän taudin välille, mistä seuraavan ylihoidon aiheuttaman haitan vuoksi yleistä PSA-seulontaa ei suositella käytettäväksi. Lisäksi PSA-seulonta ei alenna kokonaiskuolleisuutta. Sillä voidaan kuitenkin seuloa epäilyn herätessä potilaita, sillä suurentuneet arvot lisäävät syövän todennäköisyyttä. Seerumin pitoisuuden ollessa 4–10 µg/l syövän mahdollisuus on noin 25 % ja arvon ollessa yli 10 µg/l reilu 50 %. Mikäli arvot ovat välillä 4–10 µg/l potilaalta tulisi määrittää kokonaispitoisuuden lisäksi vapaan PSA:n osuus, mikä lisää syöpäennusteen tarkkuutta. Mitä suurempi vapaan PSA:n osuus on, sitä pienempi on syövän todennäköisyys. Osuus ilmoitetaan prosentteina ja kun kokonaispitoisuus on välillä 4–10 µg/l ennustaa 0–10 % osuus 56 % todennäköisyydellä syöpää kun taas yli 25 % osuudella riski on vain 8 %. Tärkeä ennustetekijä on myös PSA:n kasvunopeus. Nopea kasvunopeus ennustaa syöpäriskiä, urologin konsultaatioon lähettämisen rajana pidetään 0,75 µg:n nousua vuodessa. (Eturauhassyöpä: Käypä hoito –suositus 2014, EAU guidelines: Prostate cancer 2014, Schröder ym. 2014.)

Diagnoosi varmennetaan ultraääniohjauksessa otettavilla biopsioilla. Samalla ultraäänellä tarkastetaan eturauhasen koko ja koostumus. Biopsioista määritetään Gleason-pisteet ja syövän TNM-luokitus. Gleason-pisteytys ottaa huomioon eturauhassyöväälle tyypillisen multifokaalisuuden

eli sijaitsemisen useassa eri kohtaa eturauhasta ja näiden alueiden mahdollisen eroavaisuuden histologisesti. Pisteitä annetaan 1–5 solujen erilaistumisasteen ja histologisten piirteiden mukaan. Yksi piste tarkoittaa hyvin erilaistunutta ja viisi pistettä huonosti erilaistunutta. Kahden yleisimmän syöpäkudostyyppin pisteet lasketaan yhteen niin että yleisin ilmoitetaan ensin (esimerkiksi 4 + 5), jolloin saadaan yhteispisteet 2–10. Yhteispisteet 2–6 merkitsevät rauhallista, 7 keskivaikeaa ja 8–10 ärhääkää syöpää. (Epstein ym. 2005.)

Eturauhassyövän diagnostiikkaan on kokeiltu erilaisia kuvantamismenetelmiä ultraäänen lisäksi. CT-kuvauksella pystytään määrittämään eturauhasen koko, muttei koostumusta tai kasvamista kapselin ulkopuolelle, jolloin diagnostiikka jää puutteelliseksi. Magneettikuvauksella saadaan hyvä kuva eturauhasen koostumuksesta, kasvaimen koosta ja sijainnista sekä mahdollisesta kapselin ulkopuolelle leviämisestä. Magneettikuvauksen ongelmana on kuitenkin tarvittavan laitteiston saatavuus, hinta ja radiologilta vaadittava erikoisosaaminen. (EAU guidelines: Prostate cancer 2014.)

Hoitolinjauksen valinta eturauhassyövän hoidossa tehdään taudin riskiryhmäluokituksen pohjalta. Riskiryhmäluokitukseen vaikuttavia tekijöitä ovat kokonais-PSA-pitoisuus, Gleason-pisteet ja TNM-luokitus. Lisäksi hoitovalintoja tehtäessä otetaan huomioon potilaan odotettavissa oleva elinikä ja yleistila. Taulukossa 3 on esitetty tämänhetkisiä riskiryhmäluokituksia. (Eturauhassyöpä: Käypä hoito –suositus 2014, EAU Guidelines: Prostate cancer 2014.)

	erittäin pieni riski	pieni riski	keskisuuri riski	suuri riski	paikallisesti levinnyt
D'Amico		PSA < 10 ng/ml, GS < 7 ja cT1-2a	PSA 10-20 ng/ ml , Gs < 8 tai cT2b	PSA > 20 ng/ml, GS > 7 tai cT2c-3a	
NCCN	cT1c, GS < 7, PSA < 10 ng/ml, PSAD < 0,15, <3 pos. biopsiaa	PSA < 10 ng/ml, GS < 7 ja cT1-2a	PSA 10-20 ng/ ml , Gs = 7 tai cT2b-2c	PSA > 20 ng/ml, GS > 7 tai cT3a	cT3b-4
CAPRA score		< 3	3 - 5	6 - 10	
EAU		PSA < 10 ng/ml, GS < 7 ja cT1c	PSA 10-20 ng/ ml , Gs = 7 tai cT2b-2c	PSA > 20 ng/ml, GS 8 - 10 tai > cT3a	

Taulukko 3. Eturauhassyövän riskiryhmät

Paikallisen pienen riskin syövän hoidossa käytössä ovat seuranta, sädehoito ja radikaali eturauhasen poisto. Kohtalaisen riski syövälle hoidoksi suositellaan leikkausta tai ulkoista sädehoitoa, johon yhdistetään esiliitännäishormonihoito. Suuren riskin syövässä hoitovaihtoehtoina suositetaan leikkausta, sädehoitoa tai näiden yhdistelmiä sekä hormonihoitoa. (Eturauhassyöpä: Käypä hoito –suositus 2014, EAU guidelines: Prostate cancer 2014.)

Pienen riskin taudeissa potilas voidaan ottaa aktiiviseen seurantaan, koska taudin ennuste on erinomainen ilman hoitoakin. Seurannassa potilaalta määritetään säännöllisesti PSA ja tehdään kliiniset tutkimukset ja uusitaan koepalat. Tällöin vältetään ylihoidon aiheuttamilta haittavaikutuksilta. Passiiviseen seurantaan voidaan päätyä, mikäli syövän eteneminen potilaan elinaikana katsotaan epätodennäköiseksi, joko monisairaudesta tai korkeasta iästä johtuvan lyhyen elinajanodotteen vuoksi. (Eturauhassyöpä: Käypä hoito –suositus 2014, EAU guidelines: Prostate cancer 2014.)

Levinneessä eturauhassyövässä hoitomuoto on pääsääntöisesti kastreatio. Tämä voidaan suorittaa joko kiveksen poistona eli orkiektomiana tai lääkkeellisesti. Lääkkeellinen kastreatio toteutetaan joko GnRH-antagonisteilla tai -agonisteilla. Molemmilla saadaan lopetettua aivolisäkkeen GnRH-tuotanto, jolloin myös testosteronin erityys lakkaa. GnRH-agonisteja käytettäessä testosteronitasot nousevat hoidon alussa, mikä saattaa kiihdyttää taudin etenemistä. Tämän vuoksi agonisti-hoitoon liitetään antiandrogeenilääkitys hoidon alkuun. Yleisimpiä haittavaikutuksia ovat kuumat aallot, kasvojen punoitus, lihasmassan vähentyminen, erektio-ongelmat, osteoporoosi ja rasvan lisääntyminen. (Eturauhassyöpä: Käypä hoito –suositus 2014, EAU guidelines: Prostate cancer 2014.)

Antiandrogeneja voidaan käyttää hoitona yksinään paikallisesti levinneessä taudissa. Tällöin elämänlaatu heikkenee vähemmän, mutta teho ei vastaa kastreatiota. Impotenssi- ja libido-ongelmia sekä osteoporoosia tavataan vähemmän. Ongelmallisin sivuvaikutus on gynekomastia, johon annetaan profylaktinen rintojen säteilytys. Mikäli kastreatiolla ei saavuteta haluttua hoitovastetta ja syöpä jatkaa etenemistään siitäkin huolimatta, että testosteronitasot pysyvät hoitoalueella, puhutaan kastreatioresistentistä eturauhassyövästä. Tällöin pyritään oireita lievittävään ja elämänlaatua parantavaan hoitoon, johon kuuluvat mm. sytostaatti- ja kipusädehoidot. (Eturauhassyöpä: Käypä hoito –suositus 2014, EAU guidelines: Prostate cancer 2014.)

2.1.2 Virtsarakon syöpä

Virtsarakon syöpä on lisääntynyt Suomessa rekisteröinnin aloittamisesta asti. Suomen syöpärekisterin mukaan 1960-luvun lopulla uusia tapauksia todettiin miehillä noin 250 ja naisilla noin 80 tapausta vuodessa. 2012 uusia tapauksia oli miehillä reilut 900 ja naisilla vajaat 300 tapausta. Luvuissa ovat mukana virtsanjohtimen ja virtsaputken syövät, mutta nämä kattavat alle 10 % koko määrästä. Samalla virtsarakon syövän esiintyvyys on kasvanut voimakkaasti. 1980-luvun alussa esiintyvyys oli noin 2800 ja vuonna 2013 lähes 9000 tapausta. (Suomen syöpärekisteri.)

Maailmalla rakkosyöpä on yleisintä Euroopassa, Yhdysvalloissa ja Egyptissä. Harvinaisinta se on Saharan eteläpuoleisessa Afrikassa, Etelä-Amerikassa ja Aasiassa. Kuolleisuus on suurinta osassa Eurooppaa ja Pohjois-Afrikkaa ja vähäisintä Aasiassa, Keski-Amerikassa ja Keski-Afrikassa. Esiintyvyys ja kuolleisuus ovat keskimäärin vähentyneet useimmissa länsimaissa, mutta lisääntyneet osassa Itä-Eurooppaa ja kehittyvissä maissa. (Bosetti ym. 2011, Chavan ym. 2014.)

Rakkosyövän riskitekijät jakautuvat perinnölliseen alttiuteen ja ulkoisiin tekijöihin.

Rakkosyöpäpotilaan lähisukulaisilla on kaksinkertainen riski sairastua tautiin. Geneettiset riskitekijät ovat vielä heikosti tunnettuja, mutta tieto niistä lisääntyy jatkuvasti ja niiden on todettu mm. herkistävän yksilöä ulkoisille altisteille ja näin lisäävän rakkosyöpäriskiä (Gu ym. 2005, Rafnar ym. 2011, Rothman ym. 2010.)

Tupakointi on merkittävin yksittäinen rakkosyövän riskitekijä vastaten jopa 50 %:sta tapauksista (Burger ym. 2013). Tupakka sisältää aromaattisia amiineja ja polysyklisiä aromaattisia hiilivetyjä, jotka erittyvät munuaisten kautta ja vaikuttavat karsinogeenisesti virtsateihin (Freedman ym. 2011). Myös passiivisen tupakoinnin on osoitettu lisäävän rakkosyövän riskiä (Jiang ym. 2007). Tupakoinnin lopettamisella on positiivinen vaikutus rakkosyövän ennusteeseen (Lammers ym. 2011, Boström ym. 2012, Yafi ym. 2011).

Erilaisille karsinogeneeneille altistuminen työelämässä liittyy 20 %:iin rakkosyöivistä (Rushton ym. 2010). Haitallisimpia ovat alat, joilla käsitellään maalia, öljyä, metallia tai kemikaalialtistus on muuten merkittävää (Rushton ym. 2010, Samanic ym. 2008). Myös ravitsemuksen vaikutusta, etenkin riittävää nesteen nauttimista, lihavuutta, alkoholia sekä erilaisia ravinto- ja hivenaineita on

tutkittu runsaasti, mutta tutkimuksissa ei ole havaittu merkittäviä vaikutuksia syöpäriskiin (Ros ym. 2011, Pelucchi ym. 2012, Buchner ym. 2011, Hotaling ym. 2011, Calle ym. 2003).

Diagnoosi perustuu virtsatutkimuksiin, kuvantamiseen, kystoskopiaan ja elektroresektioon. Yleisin rakkosyövän aiheuttama oire on verivirtsaisuus, joka esiintyy yli 85 %:lla potilaista. Hematuria voi olla joko makro- tai mikroskooppista. Lisäksi noin kolmannes kokee erilaisia ärsytysoireita, kuten tihentynyttä virtsaamistarvetta, pyuriaa tai virtsapakon tunnetta. Rakkosyöpää epäiltäessä virtsan sytologia on hyvin spesifinen tutkimus (95–100 %) ja käytännössä varmistaa uroteelikarsinooman. Sen sensitiivisyys on heikko etenkin hyvin erilaistuneissa syöpätyypeissä. Negatiivinen sytologia ei sulje pois syöpää. Sytologian rinnalle on kehitelty myös merkkiaineita, jotka ovat sensitiivisempiä, mutta joissa spesifisyys on matalampi. (Tetu 2009, Raitanen ym. 2002, Lokeshwar ym. 2005.)

Ultraäänellä voidaan havaita vitsateiden kasvainmuutoksia ja niiden mahdollisesti aiheuttama hydronefroosi. Samanaikaisten ylävirtsatiekasvainten kartoittamiseksi tehdään yleensä TT-kuvaus tai i.v.-urografia, joilla saadaan enemmän informaatiota alueelta kuin ultraäänellä. Epäiltäessä lihakseen invasoinutta tai metastaattista syöpää tehdään edellä mainittujen lisäksi myös koko vartalon TT-kuvaus levinneisyyden selvittämiseksi. (EAU guidelines: Non-muscle invasive bladder cancer 2014.)

Tärkein diagnostinen tutkimus on virtsarakon tähytys eli kystoskopia, jossa voidaan tarkastella rakon sisäpintaa mahdollisten muutosten varalta ja ottaa biopsiat, joista määritetään kasvaimen TNM- ja maligniteetti luokka. Rakkosyövät jaetaan pinnallisiin, paikallisesti invasiivisiin ja metastasoineisiin syöpiin. Näiden hoitomuodot poikkeavat toisistaan suuresti. (EAU guidelines: Non-muscle invasive bladder cancer 2014.)

Pinnallisen rakkosyövän hoito on transurethraalinen kasvaimen höyläys eli elektroresektio (TURB). Koko kasvain pyritään poistamaan marginaalin kanssa. Operaation yhteydessä annettavalla kerta-annoksella rakonsisäistä solunsalpaajaa voidaan vähentää taudin uusiutumista. Uusiutuvissa pinnallisissa rakkosyövyissä toistuvat solunsalpaajahuuhtelut on todettu turvalliseksi ja tehokkaaksi liitännäishoidoksi. Keskisuuren riskin potilaille suositellaan mitomysiinin tai epirubisiinin käyttöä. Korkean riskin potilailla voidaan käyttää lisäksi heikennettyä tuberkuloosibakteeria (BCG). Rakon poisto tulee tehdä, mikäli korkean riskin kasvain uusii vielä puoli vuotta kestäneen konservatiivisen hoidon jälkeen. (EAU guidelines: Non-muscle invasive bladder cancer 2014.)

Rakon paikallisesti invasiivisen syövän paras hoito on radikaali virtsarakon poisto eli kystektomia. Leikkaushoitoon voidaan yhdistää liitännäishoidot solusalpaajilla, millä on todettu parantava vaikutus ennusteeseen. Virtsarakon poisto edellyttää joko avanteen tekoa tai virtsarakon korvausleikkausta, joilla varmistetaan virtsaneritys jatkossa. Mikäli potilas kieltäytyy radikaalileikkauksesta tai potilaan heikko kunto estää sen, voidaan paikallisesti levinnyttä rakkosyöpää hoitaa myös sädehoidolla ja solusalpaajilla. Näillä saadut tulokset eivät kuitenkaan ole radikaalileikkauksen veroisia. (Grossman ym. 2003.)

Metastasoitunut rakkosyöpä on kemosensitiivinen kasvain. Ensilinjan hoito on sisplatiini-pohjainen kombinaatio kemoterapia. Valitettavasti suuri osa potilaista ei esimerkiksi munuaisten vajaatoiminnan vuoksi sovellu tähän hoitoon. Toisen linjan hoitona ovat muihin lääkkeisiin pohjautuvat kemoterapiat. Kemoterapiaan soveltuvilla potilailla voidaan saavuttaa useita kuukausia lisäelinaikaa. Muissa tapauksissa hoito on palliatiivinen. (Bajorin ym. 1999, De Santis & Bachner 2007.)

2.1.3 Munuaissyöpä

Uusien munuaissyöpä tapausten määrä on ollut jatkuvassa kasvussa Suomessa rekisteröinnin aloittamisesta asti. 1960-luvulla sekä miehillä että naisilla todettiin reilut sata tapausta vuodessa. Vuonna 2011 määrä oli naisilla noussut 396:een ja miehillä 518 tapaukseen. Tämän jälkeen uusien tapausten määrä lähti ensi kertaa laskuun sekä miehillä että naisilla. (Suomen syöpärekisteri.)

Maailmalla munuaissyövän ilmaantuvuus vaihtelee suuresti. Yleisesti tapauksia todetaan eniten Euroopassa ja Pohjois-Amerikassa, vähiten Etelä-Amerikassa ja Aasiassa. Vaihtelu on kuitenkin suurta myös maiden välillä. Esimerkiksi Euroopassa munuaissyövän ilmaantuvuus miehillä Tšekissä on viisinkertainen verrattuna Serbiaan. (Chow ym. 2010.)

Munuaissyövän riskitekijät ovat vielä suurelta osin heikosti tunnettuja. Tupakoinnin yhteys munuaissyöpään on kuitenkin todistettu. Tupakoivilla miehillä on 50 % ja naisilla 20 % suurempi todennäköisyys kehittää munuaissyöpä kuin tupakoimattomilla verrokeilla. Riskin on todettu kasvavan suhteessa tupakoinnin määrään. Tupakan munuaissyöpäriskiä lisäävän vaikutuksen

oletetaan johtuvan hiilimonoksidin, sekä tupakoinnin liitännäissairauksien aiheuttaman kroonisen hypoksian ja munuaisten kautta eliminoitavien karsinogeenisten yhdisteiden vaikutuksista. (US Department of Health and Human Services 2004, Hunt ym. 2005, Chow & Devesa 2008.)

Myös ylipainon on todettu lisäävän munuaissyövän riskiä. Sen on katsottu olevan tekijänä 30–40 %:ssa länsimaissa todetuissa munuaissyövässä. Riski kasvaa verrannollisesti ylipainoon. Vaikutuksen on ajateltu selittyvän lukuisilla eri mekanismeilla. Tällaisia ovat esimerkiksi lihavuuden aiheuttama krooninen kudoshypoksia, insuliiniresistenssi ja kompensatorinen hyperinsulinemia ja lihavuuteen liittyvä yleistynyt tulehdustila. (Calle & Kaaks 2004, 2005, Pischon ym. 2006, Adams ym. 2008.)

Perinnöllistä munuaissyöpää tavataan muutamien familiaristen syöpäsyndroomien yhteydessä. Näistä tunnetuin on Von Hippel-Lindaun tauti. Kuitenkin vain hyvin pieni osa munuaissyöpätapauksista on perinnöllistä alkuperää. Munuaissyöpää sairastavan lähisukulaisilla on silti yli kaksinkertainen riski sairastua tautiin. Tutkimuksissa on löydetty lisäksi runsaasti yksittäisiä mutaatioita, jotka altistavat syövän puhkeamiselle. (Kaelin 2007, Clague ym. 2009, Chen ym. 2009, Semenza ym. 2001.)

Edellä mainittujen lisäksi kohonneeseen munuaissyöpäriskiin on yhdistetty kohonnut verenpaine ja alkoholin liikakäyttö. Runsas liikunta on katsottu suojaavaksi tekijäksi. Edellä mainituista tarvitaan lisää tutkimusta varsinaisten mekanismien selvittämiseksi. Myös ravinnon ja työaltisteiden suhdetta munuaissyöpäriskiin on tutkittu, mutta toistaiseksi näissä tutkimuksissa ei ole havaittu uusia altistavia tai suojaavia tekijöitä. (Weikert ym. 2008, McTiernan ym. 2008, 2004, Lee ym. 2009, Bertola ym. 2010, Lee ym. 2007, Kelsh ym. 2010.)

Munuaissyöpä ei aiheuta spesifejä oireita vaan syöpä todetaan usein sattumalöydöksenä muusta syystä tehdyn vatsan kuvantamisen yhteydessä. Tyypillisinä oireina voidaan kuitenkin pitää verivirtsaisuutta, laihtumista, kuumeilua, väsymystä ja kylkikipua. Laboratoriokokeissa yleisiä löydöksiä ovat hypersedimentaatio, anemia, kohonnut P-Krea ja P-Afos sekä mikroskooppinen verivirtsaisuus. Kunnollista diagnostista testiä munuaissyöpään ei ole olemassa. (EAU guidelines: Renal cell carcinoma 2014.)

Useimmiten ensimmäinen kuvausmenetelmä munuaissyöpää epäiltäessä on UÄ-kuvaus. Sillä havaitaan pienetkin kasvainmassat ja pystytään ottamaan ohjatusti biopsia diagnoosin varmentamiseksi. Pääsääntöisesti tulos varmistetaan vielä thoraxin alueelle ulottuvalla varjoaine avusteisella TT-kuvauksella, jolla saadaan arvioitua kasvaimen koko, sijainti, verisuonianatomia sekä mahdollinen leviäminen verisuonia pitkin, imusolmukkeisiin tai muihin ympäröiviin kudoksiin. Magneettikuvauksella saavutetaan lähes vastaavat tiedot kuin TT-kuvauksella. (EAU guidelines: Renal cell carcinoma 2014.)

Paikallisen munuaissyövän kuratiivinen hoito on kasvaimen poisto. Ensisijaisesti pyritään säästämään munuaiskudosta poistamalla kasvain osapoistolla mikäli kasvaimen koko ja sijainti sen sallivat. Muussa tapauksessa hoito on radikaali nefrektomia eli munuaisen poisto. Molemmat leikkauksen voidaan suorittaa laparoskooppisesti, robottiaavusteisesti tai avoleikkauksena. (EAU guidelines: Renal cell carcinoma 2014.)

Metastasoineen munuaissyövän hoito on palliatiivinen. Palliatiivisen nefrektomian on todettu helpottavan oireita osalla potilaista. Muita hoitovaihtoehtoja ovat sädehoito sekä erilaiset immunoterapeuttiset lääkkeet, kuten sunitinibi, patsopanibi ja bevasitsumabi. Kemoterapialla ei ole munuaissyövän hoidossa saavutettu hyviä tuloksia. (EAU guidelines: Renal cell carcinoma 2014.)

2.2 Polyamiinit

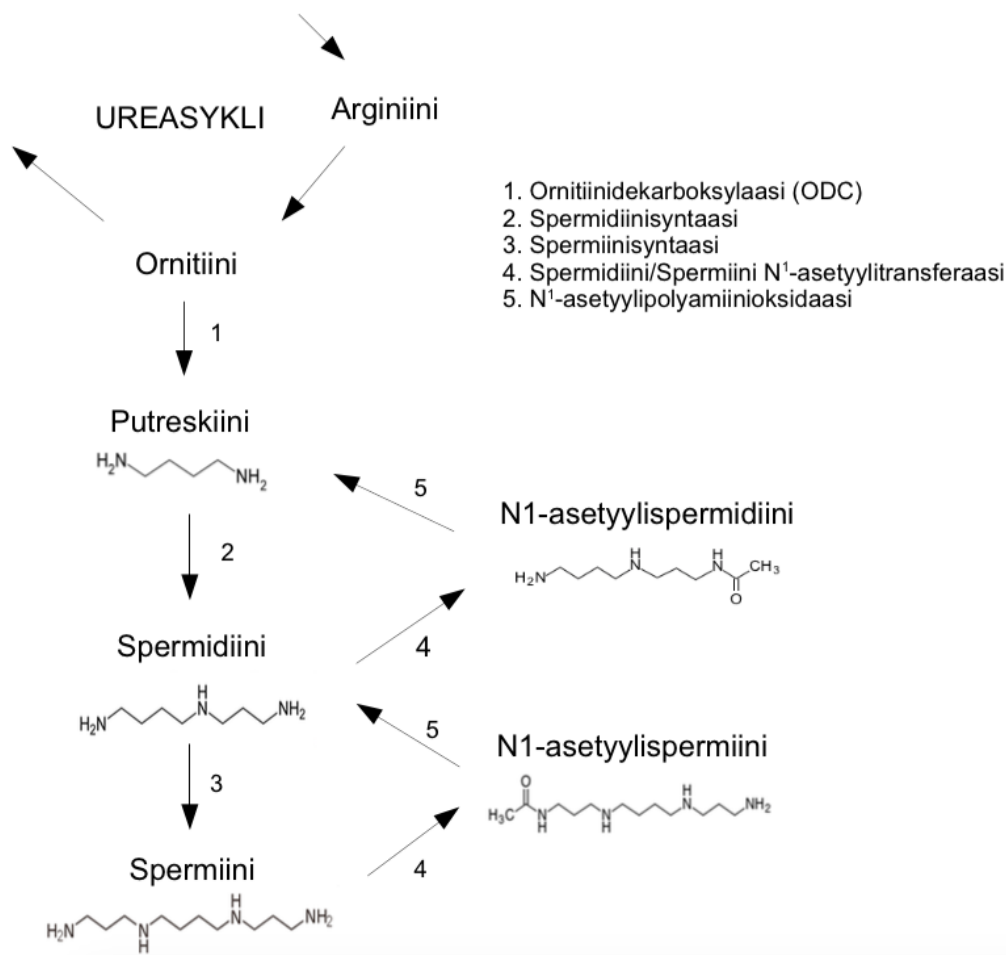
Polyamiinit ovat ryhmä orgaanisia yhdisteitä, joissa on vähintään kaksi primaarista aminoryhmää ($-NH_2$). Näitä ovat muun muassa putreskiini, kadaveriini, spermidiini ja spermiini. Niitä esiintyy kaikissa ihmisten soluissa ja solut voivat syntetisoida näitä yhdisteitä itse. Polyamiineja saadaan myös ravinnosta, erityisesti punaisesta lihasta ja juustosta. Lisäksi mikrobifloora tuottaa niitä suolessa, josta ne imeytyvät tehokkaasti elimistöön. Polyamiinien pitoisuus solussa vaihtelee solusyklin vaiheen mukaan ja vaikuttaa syklin etenemiseen. Solun pH:ssa polyamiinit esiintyvät kationeina. Tämän seurauksena ne sitoutuvat solun negatiivisiin yhdisteisiin kuten proteiineihin ja nukleiinihappoihin. Polyamiineilla on monia vaikutuksia normaaliin solukasvuun. Ne osallistuvat muun muassa solun jakautumiseen, soluhypertrofiaan ja kudosten kasvuun. Toisaalta on myös osoitettu, että erittäin suuret polyamiini pitoisuudet stimuloivat apoptoosia. Polyamiineilla on

elintärkeä rooli sikiön kehityksessä, sillä ODC-knockout hiiret kuolevat sikiön kehityksen aikana. (Gerner & Meyskens 2004.)

2.2.1 Polyamiinien metabolia

Polyamiinien tuotanto alkaa ureasyklin ornitiinista. Ornitiinidekarboksylaasi (ODC) dekarboksyloi ornitiinin, jolloin muodostuu putreskiinia. Putreskiinista tuotetaan edelleen spermidiiniä ja spermiiniä. Tämä tapahtuu liittämällä reaktioketjun edeltävään polyamiiniin propyyliamiini. Spermidinisyntaasi katalysoi spermidiinin muodostumista putreskiinista ja vastaavasti spermiinisyntaasi katalysoi spermiinin muodostumista spermidiinistä. Liitettävä propyyliamiini-ryhmä saadaan dekarboksyloimalla S-adenosyylimetioniini. Tätä reaktiota katalysoi S-adenosyylimetioniinidekarboksylaasi. (Soda 2011, Gerner & Meyskens 2004.)

Spermiinin ja spermidiinin hajoaminen tapahtuu asetyloinnin kautta. Näiden hajoamisreaktioiden katalysoinnissa on tärkeä rooli kahdella entsyymillä, spermidiini/spermiini- N^1 -asetyylitransferaasilla (SSAT) ja N^1 -asetyylipolyamiinioksidaasilla (APAO). SSAT katalysoi asetyyliryhmän liittämisen asetyyli-CoA:sta spermiinin ja spermidiinin aminopropyyliosaan, jolloin muodostuu monoasetyloituja polyamiineja. APAO puolestaan katalysoi muodostuneen asetyloidun polyamiinin hapettumisen, jolloin syntyy spermidiiniä tai putreskiinia riippuen lähtötuotteesta. Tämän reaktion yhteydessä syntyy myös vetyperoksidia, josta aiheutuu oksidatiivista stressiä solulle. Ylimääräisten polyamiinien sekreetio tapahtuu kuljettamalla asetyloitu spermiini tai spermidiini ulos solusta ja erittämällä se munuaisista virtsaan. (Soda 2011, Gerner & Meyskens 2004.)



Kuva 1. Kaavio polyamiinien metaboliasta.

Polyamiinituotannon säätely tapahtuu säätelemällä ornitiinidekarboksylaasin ja S-adenosyylimetioniinidekarboksylaasin aktiivisuutta. ODC on lyhytikäinen proteiini. Sen inhibitio tapahtuu antizyymin toimesta, joka ohjaa sen proteosomilla tapahtuvaan hajotukseen. Korkea polyamiinipitoisuus stimuloi antizyymin MRA:n translaatiota. Toinen säädely entsyymi on S-adenosyylimetioniinidekarboksylaasi. Myös sen säätely tapahtuu negatiivisen feedback loopin kautta, kun polyamiinipitoisuus nousee. Polyamiinien hajotuksessa SSAT:n katalysoima reaktio on metabolian pullonkaula. Myös SSAT:n aktiviteetti lisääntyy polyamiinipitoisuuden noustessa. (Moinard ym. 2005.)

Soluilla on oman polyamiinisynteesin ja -katabolian lisäksi transportterijärjestelmä, jonka avulla polyamiineja voidaan kuljettaa solukalvon yli sisään ja ulos solusta. Myös tämä järjestelmä osallistuu aktiivisesti solunsisäisen polyamiinipitoisuuden säätelyyn. Ihmisellä tämä järjestelmä ja sen toiminta on kuitenkin huonosti tunnettu. (Moinard ym. 2005.)

Solusykli koostuu neljästä eri vaiheesta: G1 ja G2 ovat solun kasvuvaiheita, S-vaiheessa DNA kahdentuu ja M-vaiheessa solu jakautuu. Solun polyamiinipitoisuuden on havaittu olevan korkeampi G1- ja S-vaiheiden aikana. Lisäksi on havaittu, että solusykli ei etene G1-vaiheesta S-vaiheeseen, jos polyamiinien pitoisuus on normaalia matalampi. (Thomas & Thomas 2001.) Tämä osoittaa, että polyamiineilla on tärkeä rooli solusyklin säätelyssä. Sykliinit ja sykliiniriippuvaiset kinaasit (CDK) ovat proteiineja, jotka ovat vastuussa solusyklin etenemisestä. Mitä ilmeisimmin polyamiinien vaikutukset ilmenevät CDK:n kautta, vaikuttamalla niiden estäjien pitoisuuksiin solussa (Igarashi & Kashiwagi 2010).

2.2.2 Polyamiinit ja syöpä

Polyamiinit vaikuttavat solun jakautumiseen, soluhypertrofiaan ja kudosten kasvuun (Gerner & Meyskens 2004). Tätä taustaa vasten onkin helppo ymmärtää, miksi niillä on rooli myös syövän kehityksessä.

Veren ja virtsan polyamiinipitoisuudet nousevat useissa syöpätaudeissa. Jos tuumori onnistutaan leikkaamaan kuratiivisesti, polyamiinipitoisuudet alenevat. Relapsin yhteydessä pitoisuudet taas nousevat. (Kawakita & Hiramatsu 2006.) Syöpäkudos vaikuttaa siis tuottavan runsaasti polyamiineja.

Monissa syöpätaudeissa polyamiinipitoisuuksien kasvu kyetään selittämään ODC:n lisääntyneellä aktiivisuudella. MYC on yksi tunnetuimmista onkogeeneistä. Se on normaalisti toimiessaan transkriptiotekijä, joka lisää monien geenien ilmenemistä. ODC:n transkription on osoitettu olevan MYC:n säätelemää (Bello-Fernandez ym. 1993). Näin ollen lisääntynyt MYC-onkogeenin transkriptio johtaa myös lisääntyneeseen ODC:n tuotantoon ja tätä kautta polyamiinien tuotanto lisääntyy ja niiden pitoisuus kasvaa. Myös ODC:tä inhiboivan antizyymien ja SSAT:n pitoisuuksien tiedetään alenevan esimerkiksi kolorektaalisyövässä (Gerner & Meyskens 2004).

Erityisen mielenkiintoisia syövän diagnostiikan kannalta ovat diasetyloidut polyamiinit, eli N¹,N¹²-diasetyylispermiini ja N¹,N⁸-diasetyylispermidiini. Normaalitylanteessa niiden erityis virtsaan on paljon vähäisempää kuin monoasetyloitujen polyamiinien ja vaihtelu yksilöiden välillä

on vähäisempää. Eritys vaikuttaisi olevan myös suoraan riippuvaista veren pitoisuuksista ja munuaisfunktioista, joten erittyvää määrää on helppo vertailla suhteuttamalla se kreatiniinin eritykseen. (Kawakita & Hiramatsu 2006.) N^1,N^{12} -diasetyylispermiinin pitoisuuden on havaittu kohoavan useissa syövässä (Kawakita & Hiramatsu 2006) ja esimerkiksi paksusuolen syövässä sen on huomattu olevan jopa herkempi kasvainmerkkiaine kuin perinteiset CEA ja CA19-9, varsinkin aikaisessa syövän vaiheessa (Nakayama ym. 2012).

Ajatus polyamiinien roolista syövän kehittymisessä on johtanut yrityksiin kehittää polyamiinimetaboliaan vaikuttavia lääkkeitä, joita voitaisiin mahdollisesti käyttää syövän ehkäisyssä tai hoidossa. Difluorometyyliornitiini (DFMO) on ODC:n irreversiibeli antagonist, joka kehitettiin edellä mainittua tarkoitusta varten. Se ei kuitenkaan toiminut syövän hoidossa (Gerner & Meyskens 2004). Tämä johtunee siitä, että solut voivat käyttää ravinnosta saatuja ja suolen bakteerien tuottamia polyamiineja, jos niiden oma polyamiinituotanto estetään. DFMO:n on kuitenkin havaittu olevan tehokas lääke hirsutismin ja Afrikkalaisen trypanosomiaasin, eli unitaudin, hoidossa. DFMO:n lisäksi on kehitetty AdoMetDC:n inhibiittori methylglyoxal-bis(guanylhydrazone), joka on havaittu ihmisellä toksiseksi. Myös erilaisia polyamiinianalogeja on kehitetty ja niitä tutkitaan syövän hoidossa ja ehkäisyssä. (Casero & Marton 2007.)

2.2.3 Polyamiinit urologisissa syövässä

Hiramatsu ym. (1997) tutkivat N^1,N^{12} -diasetyylispermiinin ja N^1,N^8 -diasetyylispermidiinin toimintaa urologisten maligniteettien diagnostiikassa. Heillä oli 31 potilasta, joista 4:llä oli kivessyöpä, 15:llä eturauhassyöpä, 8:lla munuaissyöpä ja 4:llä virtsarakon syöpä. Kontrolliryhmänä heillä oli hyvänlaatuisista urologisista sairauksista kärsiviä potilaita (mm. prostatiitti ja hyvänlaatuinen eturauhasen liikakasvu) sekä täysin terveet verrokkit. He havaitsivat, että diasetyloitujen polyamiinien avulla voidaan erottaa 90 % syöpätapauksista terveistä verrokeista ja 60 % verrattuna hyvänlaatuisiin tauteihin. Hyvänlaatuisista tapauksista noin 37 %:lla diasetyylipolyamiinien pitoisuudet olivat kohonneet, mutta eivät yhtä selkeästi kuin syöpäpotilailla. Tutkimuksen mukaan diasetyloidut polyamiinit toimivat myös ennusteellisina tekijöinä hoidon jälkeen, jolloin normaaleiksi palautuneet arvot lupasivat parempaa ennustetta. Tutkimuksen

ongelma on pieni potilasmateriaali, lisäksi esimerkiksi virtsarakko- ja kivessyöpäpotilaita oli mukana vain neljä kappaletta molempia.

Polyamiinien hyödystä virtsarakkosyövän diagnostiikassa ei juuri ole tutkimuksia. Stejskal ym. (2006) vertailivat virtsarakon uroteelin syöpää sairastavien ja benigniä urologista tautia sairastavien potilaiden virtsan N^1, N^{12} -diasetyylispermiinin pitoisuuksia. Virtsarakon syöpää sairastavia potilaita oli 36 ja verrokkeja 30. Tässä tutkimuksessa ei havaittu eroa virtsan N^1, N^{12} -diasetyylispermiinipitoisuuksissa kyseisten potilasryhmien välillä. On tosin huomattava, että tässä tutkimuksessa N^1, N^{12} -diasetyylispermiinin pitoisuuksia virtsassa ei suhteutettu kreatiniinin pitoisuuksiin, kuten kuuluisi tehdä, joten tulokset saattavat olla virheellisiä. Lisäksi myös benignit tilat voivat nostaa N^1, N^{12} -diasetyylispermiini-pitoisuuksia (Hiramatsu ym. 1997), joten olisi tarpeen verrata myös terveisiin verrokkeihin.

On tehty joitakin tutkimuksia, joissa on selvitetty polyamiinien vaikutusta urologista syöpää sairastavan potilaan ennusteeseen. Bigot ym. (2010) osoittivat korkean preoperatiivisen veren spermiini- ja spermiidipitoisuuden heikentävän ennustetta leikkauksen jälkeen munuaissyövässä. Myös positiivinen spermiinin immunohistokemiallinen värjäystulos resektoidusta munuaiskasvaimesta näyttää heikentävän potilaan ennustetta (Rioux-Leclercq ym. 2004).

3 Materiaalit ja metodit

3.1 Potilasmateriaali

Tutkimukseen rekrytoitiin urologisia syöpiä sairastavia potilaita Tampereen yliopistollisen sairaalan urologian klinikasta ja Hatanpään sairaalasta. Verrokeiksi rekrytoitiin samoista paikoista eturauhasen hyvänlaatuisesta liikakasvusta kärsiviä potilaita. Eturauhassyöpää sairastavia potilaita oli 50, virtsarakon syöpää sairastavia 10 ja munuaissyöpäpotilaita 18. Verrokkiryhmässä oli 21 potilasta. Tietoja potilaista on esitetty taulukossa 4.

	Verrokki	Eturauhassyöpä	Virtsarakon syöpä	Munuaissyöpä
Potilas lkm	21	50	10	18
Miehiä / naisia	21 / 0	50 / 0	8 / 2	10 / 8
Ikä (keskihajonta)	66,1 (5,8)	61,7 (6,2)	72,2 (6,9)	65,6 (10,1)
Ikä: min...max	53...75	49...73	59...80	47...84

Taulukko 4. Potilaiden tiedot.

3.2 Nestekromatografia-tandemmassaspektrometria

Näytteet analysoitiin nestekromatografia-tandemmassaspektrometrialla. Nestekromatografiassa liuos, johon mitattavat molekyylit ovat liuenneina, ajetaan kiinteän faasin läpi. Tällöin molekyylit erottuvat toisistaan erillisiksi fraktioiksi perustuen niiden vuorovaikutukseen kiinteän faasin kanssa. Tämän jälkeen erottuneet molekyylifraktiot analysoitiin tandemmassaspektrometrialla. Massaspektrometria erottelee molekyylit perustuen niiden massan ja varauksen suhteeseen. Tandemmassaspektrometriassa molekyylit jakautuvat uusiin fragmentteihin erillisten massaspektrometria-analyysien välissä, jolloin saavutetaan tarkempi erottelukyky. (Merja Häkkinen ym. 2013.)

3.3 Tilastolliset menetelmät

Polyamiinipitoisuudet mitattiin eri syöpä- ja verrokinäytteistä ja suhteutettiin kreatiniinipitoisuuksiin. Arvoista laskettiin keskiarvot ja keskihajonta käyttäen taulukkolaskentaohjelmistoa. Lisäksi saatuja tuloksia analysoitiin logistisen regression, pääkomponenttianalyysin ja leave-one-out -ristiinvalidoinnin avulla.

Logistisella regressiolla analysoitiin, kuinka hyvin virtsan polyamiinipitoisuudet ennustavat syöpää potilasryhmissä. Logistista regressiota käytetään, kun muuttuja voi saada vain kaksi tulosta (tässä tutkimuksessa syöpä tai ei syöpää). Malli ennustaa todennäköisyyttä, jolla potilaalla on syöpä,

perustuen potilaan virtsan polyamiinipitoisuuteen. Lisäksi se kertoo vaikuttaako selittävä muuttuja tapahtuman todennäköisyyteen ja kuinka suuri vaikutus on.

Lisäksi käytettiin pääkomponenttianalyysiä. Tämän menetelmän tarkoitus on yksinkertaistaa analyysia. Tiettyä päätapahtumaa voi ennustaa usea eri muuttuja, mutta pääkomponenttianalyysin avulla näitä muuttujia voidaan yhdistellä niin, että ne voidaan korvata pienemmällä joukolla uusia, keinotekoisia, muuttujia, joita on helpompi analysoida kuin alkuperäistä suurta muuttujajoukkoa. Olennaista on, että uudet muuttujat säilyttävät mahdollisimman suuren osan alkuperäisten muuttujien piirteistä ja vaihtelusta, jolloin tietoa ei mene hukkaan.

Mallin toimivuus testattiin leave-one-out -ristiinvalidoinnilla. Tässä menetelmässä aineistosta poistetaan yksi havainto ja testataan kuinka hyvin jäljelle jäänyt aineisto ennustaa tämän yksittäisen havainnon tulosta. Näin pystytään arvioimaan mallin yleistettävyyttä.

4 Tulokset

4.1 Polyamiinipitoisuudet

Polyamiinipitoisuudet ja niiden keskihajonnat verrokeilla ja eri urologisissa syövässä on esitetty taulukossa 5. Polyamiinipitoisuudet on suhteutettu kreatiniiniin. Määritetyt polyamiinit ovat putreskiini, spermiidiini, spermiini, asetyyliputreskiini, asetyylikadaveriini, N¹-asetyyლისpermiidiini, N⁸-asetyyლისpermiidiini, diasetyyliputreskiini, diasetyylikadaveriini, diasetyლისpermiidiini ja diasetyლისpermiini.

Johdonmukaisesti polyamiinipitoisuudet ovat pienempiä verrokkiryhmässä ja korkeampia syöpäpotilailla. Syöpätapausten keskimääräiset pitoisuudet osuvat kuitenkin lähes aina verrokkiryhmän keskihajonnan sisään ja kaikissa ryhmissä keskihajonnat risteävät keskenään. Tulokset eivät siis ole tilastollisesti merkitseviä.

	DiAcPUT	AcPUT	DiAcCAD	AcCAD	DiAcSPD	PUT	N1AcSPD	N8AcSPD	DiAcSPM	SPD	SPM
Verrokki	0,130 (0,125)	9,306 (2,775)	0,036 (0,0336)	0,598 (0,386)	0,242 (0,086)	0,372 (0,376)	3,382 (1,735)	2,438 (0,621)	0,121 (0,141)	0,157 (0,060)	0,710 (0,872)
Eturauhas- syöpä	0,178 (0,192)	11,523 (6,666)	0,202 (0,517)	1,733 (2,390)	0,304 (0,176)	0,546 (1,006)	3,779 (2,847)	3,062 (1,460)	0,199 (0,632)	0,235 (0,240)	1,062 (1,753)
Virtsarakon syöpä	0,128 (0,075)	11,858 (2,301)	0,053 (0,045)	1,363 (2,552)	0,275 (0,068)	0,729 (0,541)	3,371 (0,661)	3,109 (0,704)	0,134 (0,082)	0,219 (0,064)	0,861 (0,697)
Munuais- syöpä	0,161 (0,080)	12,304 (5,661)	0,168 (0,266)	1,077 (1,246)	0,324 (0,179)	0,467 (0,332)	3,848 (1,247)	3,021 (0,819)	0,102 (0,048)	0,208 (0,137)	0,935 (1,068)
DiAcPUT = Diasetyyliputreskiini, AcPUT = Asetyyliiputreskiini, DiAcCAD = Diasetyyliputreskiini, N8AcSPD = N8-asetyyliispermidiini, DiAcSPM = Diasetyylispermidiini, SPD = Spermiini, SPM = Spermiini											

Taulukko 5. Polyamiinipitoisuuksien keskiarvot eri syövyssä. Suluissa keskihajonta. Yksikkö $\mu\text{mol/g}$ krea.

4.2 Luokittelu

	neg. diagnoosi	pos. diagnoosi
verrokki	7	14
eturauhassyöpä	10	40
sensitiivisyys = 0,80		spesifisyys = 0,33

Taulukko 6. Eturauhassyövän diagnostiikka.

Eturauhassyövän diagnostiikassa menetelmä löysi 40 tapausta 50:stä, mutta toisaalta 21 verrokista 14 sai positiivisen diagnoosin. Sensitiivisyys oli 80 %, mutta spesifisyys jäi 33 %:iin. Positiivinen ennustearvo oli 74 % ja negatiivinen ennustearvo vastaavasti 41 %.

	neg. diagnoosi	pos. diagnoosi
verrokki	13	8
Virtsarakon syöpä	7	3
sensitiivisyys = 0,30		spesifisyys = 0,62

Taulukko 7. Virtsarakkosityövän diagnostiikka.

Virtsarakon syövän diagnostiikassa menetelmä havaitsi kolme tapausta 10:stä. 21 verrokista kahdeksan sai positiivisen diagnoosin. Sensitiivisyys oli 30 % ja spesifisyys 62 %. Positiivinen ennustearvo oli 27 % ja negatiivinen ennustearvo vastaavasti 65 %.

	neg. diagnoosi	pos. diagnoosi
verrokki	10	11
munuaissyöpä	9	9
sensitiivisyys = 0,50		spesifisyys = 0,48

Taulukko 8. Munuaissyövän diagnostiikka.

Munuaissyövän diagnostiikassa menetelmä havaitsi yhdeksän tapausta 18:sta ja 11 verrokkia 21:stä sai positiivisen diagnoosin. Sensitiivisyys oli 50 % ja spesifisyys vastaavasti 48 %. Positiivinen ennustearvo oli 45 % ja negatiivinen ennustearvo 53 %.

5 Pohdinta

Polyamiinipitoisuuksissa verrokkien, eli prostata hyperplasia potilaiden, ja eturauhas-, virtsarakko- tai munuaissyöpää sairastavien potilaiden välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa. Verrokkien virtsan polyamiinipitoisuudet vaikuttivat kuitenkin olevan johdonmukaisesti hieman pienempiä kuin urologista syöpää sairastavien potilaiden polyamiinipitoisuudet.

Eturauhassyövän diagnostiikassa saavutettiin 80 %:n herkkyys, mutta tällöin spesifisyys jäi vain 33 %:iin. Virtsarakko- ja munuaissyöpien diagnostiikassa menetelmän sensitiivisyys ja spesifisyys jäivät selvästi heikommiksi. Osittain tämä voi selittyä pienemmällä potilasmateriaalilla näissä syövässä, minkä takia ryhmien väliset pienet erot polyamiinipitoisuuksissa eivät tule selkeästi esille.

Tällä hetkellä käytössä olevat urologisten syöpien diagnostiset menetelmät eivät ole optimaalisia. Laajimmassa käytössä olevan PSA-arvon seurannan avulla tunnistetaan eturauhassyöpätapaukset hyväksyttävällä herkkyydellä ja tarkkuudella. Ongelmana on kyvyttömyys kunnolla erotella aggressiivisia syöpäkasvaimia hitaasti etenevistä syövästä. Tästä seuraavan yli diagnostiikan ja -hoidon vuoksi PSA ei sovellu seulontaan eikä sitä tulisi määrittää ilman selvää syytä. (Määttänen ym. 2007, Auvinen ym. 2004.) Tämän tutkimuksen perusteella PSA:n määrittäminen on kuitenkin parempi menetelmä kuin diagnostiikka virtsan polyamiinipitoisuuksilla.

Virtsarakon syövän diagnostiikassa käytössä olevan virtsan sytologian tutkimisen ongelmana on heikko sensitiivisyys etenkin hyvin erilaistuneissa syöpätyypeissä. Sen sijaan menetelmän spesifisyys on kiitettävän korkea ja positiivinen testitulos käytännössä varmistaa uroteelikarsinooman. Pidemmälle kehitetyt merkkiaineet parantavat sensitiivisyyttä hyvin erilaistuneita tautimuotoja kohtaan, mutta samalla spesifisyys heikkenee. (Turco ym. 2011,

Raitanen ym. 2002, EAU guidelines: Non-muscle invasive bladder cancer) Tutkitulla menetelmällä ei päästy yhtä hyviin tuloksiin.

Munuaissyöpään ei ole tällä hetkellä olemassa kunnollisia diagnostisia markkereita. Syövät ovatkin yleensä sattumalöydöksiä ja tauti mahdollisesti jo pitkälle edennyt. Tarvetta olisikin menetelmälle, joka tunnistaisi urologiset syövät sekä riittävän spesifisesti että sensitiivisesti ja pystyisi tekemään eroa syöpien aggressiivisuuksien välille. Tässä tutkimuksessa polyamiinien pitoisuusmittauksilla ei saavutettu hyviä tuloksia diagnostiikan kannalta. Saadut tulokset vertailtuna käytössä oleviin diagnostisiin menetelmiin on esitetty taulukossa 9.

	sensitiivisyys	spesifisyys
Eturauhassyöpä		
kokonais PSA (>4 ng/ml)	85 %	94 %
omat tulokset	80 %	33 %
Virtsarakon syöpä (uroteelikarsinoma)		
sytologia	38,8 - 42,3 %	93,7 - 97,6 %
uudet merkkiaineet	29 - 100 %	62 - 92 %
omat tulokset	30 %	62 %
Munuaissyöpä		
ei aiempaa testiä	-	-
omat tulokset	48 %	50 %

Taulukko 9. Diagnostisten testien vertailu.

Tähän tutkimukseen ja itse menetelmään liittyy joitakin heikkouksia. Virtsan, ja muun elimistön, polyamiinipitoisuuksiin vaikuttavat muutkin tekijät kuin lisääntynyt synteesi kasvainkudoksessa. Polyamiineja saadaan ruuasta ja toisaalta suoliston mikrobifloora syntetisoi polyamiineja, jotka imeytyvät tehokkaasti elimistöön. Polyamiinien synteesiä tapahtuu myös muissa kudoksissa kuin kasvaimessa, joskin muualla synteesi säätyy käytettävissä olevien ulkopuolisten polyamiinien mukaan. (Gerner & Meyskens 2004.) Toisaalta polyamiinien erityis virtsaan on säädeltyä ja tubuluksissa tapahtuu reabsorptiota, joten erittyvä määrä ei välttämättä ole suuri vaikka polyamiinien tuotanto kehossa olisi kiihtynyttä. Tosin on havaittu, että N¹,N¹²-diasetyylispermiinin ja N¹,N⁸-diasetyylispermidiinin erittyminen virtsaan on normaalitilassa ihmisellä hyvin vähäistä ja

niiden eritystä ei mitä ilmeisimmin myöskään säädellä munuaisissa reabsorption kautta (Kawakita & Hiramatsu 2006). Näin ollen nämä voisivat olla potentiaalisia markkereita kasvaimille.

Itse tutkimuksessa muiden kuin eturauhassyöpäryhmän koot olivat pieniä. Virtsarakon syöpää sairastavia potilaita oli mukana vain kymmenen ja munuaissyöpäpotilaita vain 18. Näin pienellä aineistolla suuret erot polyamiinipitoisuuksissa erottuisivat, mutta jos todellinen ero on pieni, sitä ei välttämättä havaita. Pienellä aineistolla myös todennäköisyys sille, että muutama poikkeava tulos vaikuttaa keskiarvoihin paljon, on todennäköisempää ja tästä voi aiheutua harhaa tuloksiin. Jatkossa pitää rekrytoida lisää potilaita ja pyrkiä tutkimaan asiaa suuremmilla potilasryhmillä.

Myös eturauhasen hyvänlaatuista liikakasvua sairastavien potilaiden käytöstä verrokkiryhmänä aiheutuu joitakin ongelmia. Luonnollisesti kaikki prostatan hyvänlaatuista hyperplasiaa sairastavat potilaat ovat miehiä. Tämä ei haittaa vertailussa eturauhassyöpään, mutta virtsarakko- ja munuaissyöpää sairastavat myös naiset. Tässäkin tutkimuksessa osa kyseisistä potilaista oli naisia. On mahdollista, että tästä seuraa harhaa tuloksiin. Toisekseen olisi hyödyllistä käyttää verrokkiryhmänä sellaisia potilaita, joilla epäillään syöpää, mutta joka tutkimuksissa paljastuukin terveeksi. Tämän kaltainen asetelma sopisi kuvaamaan paremmin klinisen työn piirteitä. Kolmanneksi on mahdollista, että polyamiinipitoisuudet muuttuvat myös eturauhasen hyvänlaatuisessa liikakasvussa, joten olisi järkevää verrata myös täysin terveisiin verrokkeihin.

Nestekromatografia-tandemmassaspektrometria on menetelmänä suhteellisen työläs ja monimutkainen, sillä se sisältää useita eri vaiheita alkaen näytteiden esikäsittelystä aina analyysin eri välivaiheisiin. Tästä seuraa, että se vaatii tekijältään erikoisosaamista. Lisäksi menetelmän monimutkaisuuden myötä myös hinta nousee korkeaksi. Toisaalta osa vaiheista voidaan automatisoida, jolloin analyysin suorittaminen helpottuu.

Tässä tutkimuksessa ei kyetty osoittamaan polyamiinien luotettavuutta urologisten syöpien diagnostiikassa. Diasetyloidut polyamiinit ovat kuitenkin vaikuttaneet lupaavilta tuumorimarkkereilta useissa syöpätaudeissa ja niiden tutkiminen myös jatkossa on perusteltua myös urologisten syöpien osalta. Tulevaisuudessa pitää pyrkiä rekrytoimaan lisää potilaita kaikkiin potilasryhmiin ja kasvattamaan näin otoskokoa, jolloin eroja saataisiin osoitettua selvemmin. Kontrolliryhmän valintakriteereihin olisi suotavaa kiinnittää huomiota, jotta vertailu kaikkien syöpätyyppien kanssa olisi tasokasta. Tutkimusta olisi myös syytä pyrkiä laajentamaan uusiin

syöpätyyppeihin. Esimerkiksi GI-kanavan syöivistä saadut tulokset ovat olleet lupaavia ja tätä tutkimuslinjaa olisi perusteltua viedä eteenpäin.

Viitteet

- Adams, K. F. Leitzmann MF, Albanes D, ym. Body size and renal cell cancer incidence in a large US cohort study. *Am. J. Epidemiol.* 2008;168:268–277.
- Auvinen A, Mänttinen L, Finne P, ym. Test sensitivity of prostate-specific antigen in the Finnish randomised prostate cancer screening trial. *Int J Cancer.* 2004 Oct 10;111(6):940-3.
- Bajorin DF, Dodd PM, Mazumdar M, ym. Long-term survival in metastatic transitional-cell carcinoma and prognostic factors predicting outcome of therapy. *J Clin Oncol.* 1999;10:3173–81.
- Bello-Fernandez C, Packham G, Cleveland JL. The ornithine decarboxylase gene is a transcriptional target of c-Myc. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993;90:7804–7808.
- Bertoia, M, Albanes D, Mayne ST, Männistö S, Virtamo J, Wright ME. No association between fruit, vegetables, antioxidant nutrients and risk of renal cell carcinoma. *Int. J. Cancer* 2010;126:1504–1512.
- Bigot P, Lughezzani G, Karakiewicz P, ym. The Prognostic Value of Erythrocyte Polyamine in the Post-Nephrectomy Stratification of Renal Cell Carcinoma Specific Mortality. *The Journal of Urology* 2010;183:486–492.
- Bosetti C, Bertuccio P, Chatenoud L, Negri E, La Vecchia C, Levi F. Trends in mortality from urologic cancers in Europe, 1970-2008. *Eur Urol* 2011;60:1–15.
- Boström PJ, Alkhateeb S, Trottier G, ym. Sex differences in cancer outcomes among smokers with advanced bladder cancer. *BJU Int* 2012;109:70–6.
- Bratt O. Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *J Urol* 2002;168:906–13.
- Brinkman MT, Karagas MR, Zens MS, Schned AR, Reulen RC, Zeegers MP. Intake of α-linolenic acid and other fatty acids in relation to the risk of bladder cancer: results from the New Hampshire case-control study. *Br J Nutr* 2011;106:1070–7.
- Buchner FL, Bueno-de-Mesquita HB, Ros MM, ym. Variety vegetable and fruit consumption and risk of bladder cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer* 2011;128:2971–9.
- Burger M, Catto JW, Dalbagni G, ym. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. *Eur Urol* 2013;63:234–41.
- Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat. Rev. Cancer* 2004;4:579–591.
- Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003;348:1625–38.
- Casero RA, Marton LJ. Targeting polyamine metabolism and function in cancer and other hyperproliferative diseases. *Nature Reviews* 2007;6:373-90.

Chavan S, Bray F, Lortet-Tieulent J, Goodman M, Jemal A. International variations in bladder cancer incidence and mortality. *European Urology* 2014;66(1):59-73.

Chen M, Ye Y, Yang H, ym. Genome-wide profiling of chromosomal alterations in renal cell carcinoma using high-density single nucleotide polymorphism arrays. *Int. J. Cancer* 2009;125:2342–2348.

Chow W-H, Devesa SS. Contemporary epidemiology of renal cell cancer. *Cancer J.* 2008;14:288–301.

Chow W-H, Dong LM, Devesa SS. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *Nat. Rev. Urol.* 2010;7:245-257.

Clague J, Lin J, Cassidy A, ym. Family history and risk of renal cell carcinoma: results from a case-control study and systematic meta-analysis. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009;18:801–807.

Cornu JN, Cancel-Tassin G, Ondet V, Girardet C, Cussenot O. Olfactory Detection of Prostate Cancer by Dogs Sniffing Urine: A Step Forward in Early Diagnosis. *European Urology* 2011;59:197–201.

Dennis LK, Lynch CF, Torner JC. Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. *Urology* 2002;60:78-83.

De Santis M, Bachner M. New developments in first- and second-line chemotherapy for transitional cell, squamous cell and adenocarcinoma of the bladder. *Curr Opin Urol.* 2007;5:363–8.

Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, ym. ISUP grading committee. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005;29(9):1228–42.

Eturauhassyöpä. Käypä hoito-suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Urologiyhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim 2014 [päivitetty 27.5.2014]

European Association of Urology 2014: Muscle-invasive and metastatic bladder cancer guideline. Witjes JA, Compérat E, Cowan NC, De Santis M, Gakis G, Lebrét T, Ribal MJ, Sherif A, van der Heijden AG

European Association of Urology 2014: Non-muscle invasive bladder cancer guideline. M. Babjuk, A. Böhle, M. Burger, E. Compérat, E. Kaasinen, J. Palou, B.W.G. van Rhijn, M. Roupêt, S. Shariat, R. Sylvester, R. Zigeuner.

European Association of Urology 2014: Prostate cancer guideline. N. Mottet (chair), P.J. Bastian, J. Bellmunt, R.C.N. van den Bergh, M. Bolla, N.J. van Casteren, P. Cornford, S. Joniau, M.D. Mason, V. Matveev, T.H. van der Kwast, H. van der Poel, O. Rouvière, T. Wiegel

European Association of Urology 2014: Renal cell carcinoma guideline. B. Ljungberg, K. Bensalah, A. Bex, S. Canfield, S. Dabestani, F. Hofmann, M. Hora, M.A. Kuczyk, T. Lam, L. Marconi, A.S. Merseburger, P.F.A. Mulders, T. Powles, M. Staehler, A. Volpe.

Ferlay J, Parkin DM, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe 2008. *Eur J Cancer* 2010;46:

Freedman ND, Silverman DT, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC. Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women [published correction appears in *JAMA* 2011; 306:2220]. *JAMA* 2011;306:737–45.765–81.

Gu J, Liang D, Wang Y, Lu C, Wu X. Effects of N-acetyl transferase 1 and 2 polymorphisms on bladder cancer risk in Caucasians. *Mutat Res* 2005;581:97–104.

Gerner E, Meyskens F. Polyamines and Cancer: Old Molecules, New Understanding. *Nature Reviews* 2004;4:781–792.

Jemal A, Siegel R, Ward E, ym. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008;58:71–96.

Hakama M, Hristova L. Effect of Screening in the Nordic Cancer Control Up to the Year 2017. *Acta Oncologica* 1997;36(2):119–128.

Hiramatsu K, Sugimoto M, Kamei S, ym. Diagnostic and prognostic usefulness of N¹,N⁸-diacetylspermidine and N¹,N¹²-diacetylspermine in urine as novel markers of malignancy. *J Cancer Red Clin Oncol* 1997;123:539–545.

Hori S, Butler E, McLoughlin J. Prostate cancer and diet: food for thought? *BJU Int* 2011;107:1348-59.

Hotaling JM, Wright JL, Pocobelli G, Bhatti P, Porter MP, White E. Long-term use of supplemental vitamins and minerals does not reduce the risk of urothelial cell carcinoma of the bladder in the VITamins and Lifestyle Study. *J Urol* 2011;185:1210–5.

Hunt JD, van der Hel OL, McMillan GP, Boffetta P, Brennan P. Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies. *Int. J. Cancer* 2005;114:101–108.

Häkkinen M, Roine A, Auriola S, Tuokko A, Veskimäe E, ym. Analysis of free, mono- and diacetylated polyamines from human urine by LC-MS/MS. *Journal of Chromatography B* 941 (2013) 81-89.

Igarashi K, Kashiwagi K. Modulation of cellular function by polyamines. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2010;42:39–51.

Jiang X, Yuan JM, Skipper PL, Tannenbaum SR, Yu MC. Environmental tobacco smoke and bladder cancer risk in never smokers of Los Angeles County. *Cancer Res* 2007;67:7540–5.

Kaelin WGJ. von Hippel–Lindau disease. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2007;2:145–173.

Kawakita M, Hiramatsu K. Diacetylated Derivates of Spermine and Spermidine as Novel Promising Tumor Markers. *J. Biochem.* 2006;139:312–322.

Kelsh MA, Alexander DD, Mink PJ. & Mandel JH. Occupational trichloroethylene exposure and kidney cancer: a meta-analysis. *Epidemiology* 2010;21:95–102.

Lammers RJM, Witjes WPJ, Hendricksen K, Caris CTM, Janzing-Pastors MHC, Witjes JA. Smoking status is a risk factor for recurrence after transurethral resection of non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2011;60:713–20.

Lee JE, Hunter DJ, Spiegelman D, ym. Alcohol intake and renal cell cancer in a pooled analysis of 12 prospective studies. *J. Natl Cancer Inst.* 2007;99:801–810.

Lee JE, Männistö S, Spiegelman D, ym. Intakes of fruit, vegetables, and carotenoids and renal cell cancer risk: a pooled analysis of 13 prospective studies. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009;18:1730–1739.

Liu Y, Hu F, Li D ym. Does physical activity reduce the risk of prostate cancer? A systematic review and meta-analysis. *Eur Urol* 2011;60:1029–44.

Lokeshwar VB, Habuchi T, Grossman HB ym. Bladder tumor markers beyond cytology: International Consensus Panel on bladder tumor markers. *Urology.* 2005;66:35–63.

McTiernan, A. Mechanisms linking physical activity with cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2008;8:205–211.

Merrill RM, Brawley OW. Prostate cancer incidence and mortality rates among white and black men. *Epidemiology* 1997;8:126–31.

Moinard C, Cynober L, de Bandt JP. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clinical Nutrition* 2005;24:184–197.

Määttänen L, Hakama M, Tammela TL, ym. Specificity of serum prostate-specific antigen determination in the Finnish prostate cancer screening trial. *Br J Cancer.* 2007 Jan 15;96(1):56-60.

Nakayama Y, Torigoe T, Minagawa N, Yamaguchi K. The clinical usefulness of urinary N¹,N¹²-diacetylspermine (DiAcSpm) levels as a tumor marker in patients with colorectal cancer. *Onkology Letters* 2012;2:970–974.

Pakkanen S, Baffoe-Bonnie AB, Matikainen MP ym. Segregation analysis of 1,546 prostate cancer families in Finland shows recessive inheritance. *Hum Genet* 2007;121:257–67.

Pelucchi C, Galeone C, Tramacere I, ym. Alcohol drinking and bladder cancer risk: a meta-analysis. *Ann Oncol* 2012;23:1586–93.

Pischon T, Lahmann PH, Boeing H, ym. Body size and risk of renal cell carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int. J. Cancer* 2006;118:728–738.

Rafnar T, Vermeulen SH, Sulem P, ym. European genome wide association study identifies SLC14A1 as a new urinary bladder cancer susceptibility gene. *Hum Mol Genet* 2011;20:4268–81.

Raitanen M-P, Aine R, Rintala E, ym. Differences between local and review urinary cytology and diagnosis of bladder cancer. An interobserver multicenter analysis. *Eur Urol* 2002;41:284–9.

Rioux-Leclercg N, Delcros JG, Bansard JY, ym. Immunohistochemical Analysis of Tumor Polyamines Discriminates High-Risk Patients Undergoing Nephrectomy for Renal Cell Carcinoma. *Human Pathology* 2004;35(10):1279–1284.

Ros MM, Bas Bueno-de-Mesquita HB, Bu`chner FL, ym. Fluid and the risk of urothelial cell carcinomas in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2011;128:2695–708.

Rothman N, Garcia-Closas M, Chatterjee N, ym. A multi-stage genome-wide association study of bladder cancer identifies multiple susceptibility loci. *Nat Genet* 2010;42:978–84.

Rushton L, Bagga S, Bevan R, ym. Occupation and cancer in Britain. *Br J Cancer* 2010;102:1428–37.

Samanic CM, Kogevinas M, Silverman DT, ym. Occupation and bladder cancer in a hospital-based case-control study in Spain. *Occup Environ Med* 2008;65:347–53.

Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, ym. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet*. 2014 Aug 6. pii: S0140-6736(14)60525-0. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60525-0. [Epub ahead of print]

Semenza JC, Ziogas A, Largent J, Peel D, Anton-Culver H. Gene–environment interactions in renal cell carcinoma. *Am. J. Epidemiol.* 2001;153:851–859.

Shui IM, Mucci LA, Kraft P ym. Vitamin D-related genetic variation, plasma vitamin D, and risk of lethal prostate cancer: a prospective nested case-control study. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:690-9.

Soda K. The mechanisms by which polyamines accelerate tumor spread. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2011 30:95.

Stejskal D, Humenanska V, Hanulova Z, ym. Evaluation of urine N1,N12-diacetylspermine as potential tumor marker for urinary bladder cancer. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2006;150(2):235–237.

Suomen syöpärekisteri: www.cancer.fi/syoparekisteri

Te`tu B. Diagnosis of urothelial carcinoma from urine. *Mod Pathol* 2009;22(2):53–9.

Thomas T, Thomas TJ. Polyamines in cell growth and cell death: molecular mechanisms and therapeutic applications. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2001;58:244–258.

Turco P, Houssami N, Bulgaresi P, ym. Is conventional urinary cytology still reliable for diagnosis of primary bladder carcinoma? Accuracy based on data linkage of a consecutive clinical series and cancer registry. *Acta Cytol.* 2011;55(2):193-6. doi: 10.1159/000320861. Epub 2011 Feb 15.

US Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Smoking: A report of the Surgeon General (Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health. Atlanta, GA, 2004).

Van Patten CL, de Boer JG, Tomlinson Guns ES. Diet and dietary supplement intervention trials for the prevention of prostate cancer recurrence: a review of the randomized controlled trial evidence. *J Urol* 2008;180:2314-21; discussion 2721-2.

Weikert S, Boeing H, Pischon T, ym. Blood pressure and risk of renal cell carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am. J. Epidemiol.* 2008;167:438–446.

Yafi FA, Aprikian AG, Chin JL, ym. Contemporary outcomes of 2287 patients with bladder cancer who were treated with radical cystectomy: a Canadian multicentre experience. *BJU Int* 2011;108:539–45.

Zaridze DG, Boyle P, Smans M. International trends in prostatic cancer. *Int J Cancer* 1984;33:223-30

Zu K, Giovannucci E. Smoking and aggressive prostate cancer: a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Causes Control* 2009;20:1799-1810.